

Title	A novel three-dimensional culture system maintaining the physiological extracellular matrix of fibrotic model livers accelerates progression of hepatocellular carcinoma cells(Abstract_要旨)
Author(s)	Miyauchi, Yuya
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-03-26
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k20995
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	宮内雄也
論文題目	A novel three-dimensional culture system maintaining the physiological extracellular matrix of fibrotic model livers accelerates progression of hepatocellular carcinoma cells (線維化モデル肝の細胞外基質を維持した新たな 3 次元培養方法は肝細胞癌の進展を増強する)		
(論文内容の要旨)			
<p>肝線維化は細胞外基質（extracellular matrix, ECM）の進行性の蓄積を特徴とし、肝細胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）の発生および進行の強力な予測因子である。しかしながら、線維化肝の ECM が HCC 細胞に与える影響についてほとんど解明されていない。本論文では、線維化モデル肝に特有の ECM 環境を再現した新たな培養系を確立し、線維化肝の ECM が HCC 細胞の特性に与える影響について検証することを目的とした。</p> <p>四塩化炭素投与により作成したラット線維化モデル肝から、脱細胞化技術を用いて線維化肝に特異的な ECM を保持した脱細胞化スカフォールドを作成した。脱細胞化の質を検証したところ、作成された脱細胞化肝臓スカフォールドでは核・細胞成分は消滅しており 99%以上の核酸は除去されていた。ECM の質的量的評価を行ったところ、線維化モデル肝スカフォールドでは 1 型コラーゲン、ファイブロネクチン、ラミニンといった ECM の構成成分はびまん性に増生していた。定量評価を行うと線維化モデル肝スカフォールドではハイドロキシプロリンや硫酸化グリコサミノグリカンといった ECM の構成成分が正常肝スカフォールドと比べて有意に増加していた。</p> <p>続いて培養系としての評価を行った。HCC 細胞を経胆管的に投与し 7 日間培養したところ、正常肝スカフォールドで培養された HCC 細胞は結節状に増生していたが、線維化モデル肝スカフォールドで培養すると HCC 細胞は ECM の間をびまん性に浸潤するように増殖していた。HCC 細胞を定量的ポリメラーゼ連鎖反応および免疫蛍光染色で評価したところ、線維化モデル肝臓スカフォールドで培養された HCC 細胞は正常肝スカフォールドで培養された HCC 細胞と比較して間葉系マーカーの発現が増強し、一方で上皮系マーカーの発現が減弱していた。そのため上皮間葉転換をきたしていると考えられた。さらに線維化モデル肝スカフォールドでは HCC 細胞の増殖能および抗癌剤耐性が亢進していた。これらの機序を検証したところ、線維化モデル肝臓スカフォールドで培養された HCC 細胞はインテグリン b1 やリン酸化 FAK が強く発現されており、この経路の活性化が上皮間葉転換や増殖能および抗癌剤耐性の亢進に関与していることが示唆された。</p> <p>本論文では線維化肝の微小環境を模した新たな 3 次元培養方法を確立した。これは線維化モデル肝の本来の ECM を維持し、培養系として使用した初めての報告である。この培養方法によって、線維化モデル肝の ECM が上皮間葉転換や増殖能および抗癌剤耐性亢進といった HCC 細胞の特性に影響を与えることが判明した。この新規培養方法は線維化肝における HCC 細胞の細胞生物学的研究や新規抗癌剤の開発に有用と考えられる。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>線維化肝において、細胞外基質（ECM）が肝細胞癌（HCC）に与える影響については未だ明らかになっていない。今回申請者は、線維化肝特異的な ECM を保持した 3 次元培養方法を確立し、さらに線維化肝特異的 ECM が HCC 細胞に与える影響を検討することを目的とし研究を行った。</p> <p>脱細胞化技術を用いることにより、線維化肝および正常肝から特異的な ECM を保持した脱細胞化組織が作製可能であることを示した。</p> <p>さらに作製した脱細胞化組織を用いて HCC 細胞を培養し、特性の変化を検証した。</p> <p>線維化肝脱細胞化組織を用いて培養した HCC 細胞は正常肝脱細胞化組織で培養された場合と比較し、上皮間葉転換や高い増殖能、化学療法抵抗性を示した。また、線維化肝脱細胞化組織で培養された HCC 細胞は Integrin-FAK signaling が活性化されていることを示した。以上により線維化肝特異的 ECM は HCC 細胞の特性の変化に関与していることが示唆された。</p> <p>以上の研究は線維化肝特異的な ECM を用いた新たな 3 次元培養方法を確立し、線維化肝の ECM が肝細胞癌に与える影響を明らかにしたものであり、今後の肝臓学や腫瘍学の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 2 月 15 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			